

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE
POSTMORTALE NACHWEISBARKEITSDAUER VON
TETRACYCLIN-PRÄPARATEN, SPEZIELL CHLORTETRACYCLIN
(unter besonderer Berücksichtigung der gerichtsmedizinischen Belange)

von

OTTO HEINRICH WENZEL

1964.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE
POSTMORTALE NACHWEISBARKEITSDAUER VON
TETRACYCLIN-PRÄPARATEN, SPEZIELL CHLORTETRACYCLIN
(unter besonderer Berücksichtigung der gerichtsmedizinischen Belange)

Inaugural-Dissertation

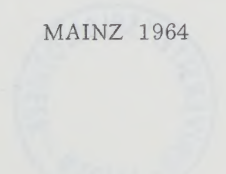
zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

OTTO HEINRICH WENZEL

aus Eschweiler bei Aachen

MAINZ 1964



Referent: Privatdozent Dr. H.J. Wagner

Korreferent: Professor Dr. Dr. K. Wagner

Dekan: Professor Dr. Thomsen

Tag der mündlichen Prüfung: 1.12.1964

Gesamtherstellung: Ditters Bürodienst Mainz



MEINEN LIEBEN ELTERN
IN DANKBARKEIT
GEWIDMET

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
I. Einleitung	1
1. Allgemeines über Antibiotika	1
2. Antibiotika in der Tierzüchtung	2
3. Antibiotika in Pflanzen	2
4. Antibiotika in der Nahrungsmittelkonservierung	3
5. Erfolg und Konsequenzen der Anwendung von Antibiotika in der Humanmedizin in forensischer Sicht	3
II. Übersicht der Nachweismethoden in der Literatur	4
III. Eigene Versuche	6
1. Versuchsanordnung (Tabelle I)	6
2. Vorversuch mit Nativ-Blut (Tabelle II)	8
3. In-vitro-Versuche	9
a) mit Chlortetracyclin (Tabelle III)	10
b) mit Tetracyclin (Tabelle IV)	10
c) mit Oxytetracyclin (Tabelle V)	11
d) Ergebnis	11
4. In-vivo-Versuche	12
a) Behandlung der Tiere	12
b) Begründung für die Untersuchung der Körperflüssigkeiten: Blut, Galle, Urin	12
c) Ergebnis (Tabelle VI u. VII)	14
5. Erfahrungen und Beobachtungen	15
6. Abschlußversuch (in vivo)	15
a) Versuchsanordnung	16
b) Ergebnis (Tabelle VIII)	18
IV. Diskussion	19
V. Zusammenfassung	21
VI. Literaturzusammenstellung	22

EINLEITUNG

Eine erste bedeutsame Aussage über die Entstehung von Krankheiten durch Giftwirkung "kleiner Tiere" machte der römische Schriftsteller VARRO (116 - 27 v. Chr.). Er behauptete, daß gewisse Krankheiten (Wechselfieber) durch "krankmachende Stoffe", die "kleine Tiere" ("bestiolae") mit sich führten, entstünden. Allerdings wurde diese Aussage jahrhundertlang nicht wiederholt.

Der Begriff Antibiotikum wurde zum ersten Male 1889 von VUILLEMIN geprägt, doch vergingen noch 39 Jahre bis zur Entdeckung des ersten Antibiotikums, des Penizillins durch A. FLEMING und etwa weitere 6 Jahre bis zur praktischen Anwendung. Seit dieser Zeit sind die Antibiotika in umfangreichster Form und breitem Anwendungsbereich zur Entwicklung gelangt. Wenn man alle zur Verfügung stehenden bzw. produzierten Antibiotika zusammenfaßt, so stellen sie immerhin die Hälfte des Wertes der gesamten pharmazeutischen Weltproduktion dar. (Weltgesundheitsorganisation Dezember 1958.) Ein erheblicher Teil davon kommt in der Humanmedizin zur Anwendung. Der Wirkungsmechanismus der Antibiotika beruht auf einer Schädigung bestimmter Mikroorganismen, einmal in der Art einer Wachstumshemmung (Bakteriostase), zum anderen auch in höheren Dosen und in Abhängigkeit vom Präparat bzw. vom Wirkstoff in der Abtötung von Bakterien (Bakterizidie).

Vornehmlich B. M. DUGGAR hat sich auf dem Gebiet der Antibiotika-Forschung dahingehend verdient gemacht, das erste Breitspektrumantibiotikum zu entdecken. Seine Aufmerksamkeit galt dem Gebiet der Strahlenpilze (Actinomycetales). Er fand eine Strahlenpilzkultur - *Streptomyces aureofaciens* (gold-gelb aussehend) -, die im Gegensatz zu dem schon fast zwei Jahrzehnte bekannten Penizillin nicht nur gram-positive, sondern auch gram-negative Bakterien, Sporenbildner, Rickettsien und große Viren in ihrer Entwicklung zu hemmen imstande waren. Die bei seinen Versuchen entdeckte Substanz Aureomycin = Chlortetracyclin war das erste Breitspektrumantibiotikum der Tetracyclinreihe. Auch die Tatsache, daß man Chlortetracyclin per os verabfolgen konnte, im Gegensatz zu den bis dahin nur intramuskulär und intravenös applizierbaren Antibiotika, war ein weiterer Erfolg. 1948, genau zwei Jahrzehnte nach der Entdeckung des Penizillins, wurde Chlortetracyclin auf einer Sitzung der New York Academy of Science der Öffentlichkeit übergeben (DUGGAR). Heute noch steht Chlortetracyclin mit an der Spitze der Breitspektrumantibiotika.

Nachfolgende Wissenschaftler, die sich mit der Aufklärung der chemischen Konstitution des Chlortetracyclins beschäftigten, fanden bei diesen Arbeiten das dem Chlortetracyclin verwandte Antibiotikum Oxytetracyclin (Terramycin) und das diesen beiden Substanzen als Grundsubstanz vorliegende Tetracyclin (Achromycin). (KUHN; VONDERBANK). Oxytetracyclin und Tetracyclin zeigten das gleichbreite antibakterielle Wirkungsspektrum wie Chlortetracyclin (WELCH u. HENDRICKS).

Doch nicht nur in der antibakteriellen Humanmedizin fand Chlortetracyclin Anwendung, sondern auch in weitestem Rahmen in der Tierzucht und Nahrungsmittelkonservierung.

B.K. HARNED und Mitarbeiter stellten bei ihren Versuchen mit Chlortetracyclin fest, daß anfallende Fermentationsrückstände fördernd auf das Wachstum von Küken wirkten. Daraufhin begannen viele Tierzüchter, ihren Futtermitteln Antibiotika - vornehmlich Chlortetracyclin - hinzuzufügen, um bessere Mastergebnisse zu erzielen (WELCH). Im anglo-amerikanischen Raum haben nach A.FLEISCH 90% aller Mischfutter Antibiotikazusätze. In der Bundesrepublik finden heute als antibiotischer Mischfutterzusatz neben Chlortetracyclin nur Penizillin und Terramycin Verwendung (BRÜGGEMANN, TIEWS).

Auch natürlicherweise finden sich in manchen Gemüsepflanzen (zum Beispiel Senföle in der Kapuzinerkresse, Zwiebel, Rettich, Knoblauch) antibiotisch wirksame Substanzen, die bei Infektion therapeutische Wirkung zeigen (VIRTANNEN). Hierzu mag eine interessante medizingeschichtliche Tatsache aufgezeigt sein. Dieser therapeutische Erfolg bestimmter Pflanzen mußte nach H.M.BÖTTCHER auch schon den alten Ägyptern zur Zeit des Pyramidenbaus bekannt gewesen sein. HERODOT berichtet um 450 v. Chr. über die Ernährung der Pyramidenbauer: "In ägyptischer Schrift ist auf der Pyramide verzeichnet, wieviel an Rettichen, Zwiebeln und Knoblauch an die Arbeiter ausgegeben wurde. Wenn ich mich dessen, was der Dolmetscher vortrug, richtig erinnere, so wurden rund 1600 Silbertalente (ca. 16 Millionen DM) dafür ausgegeben!"

Lang blieb diese Massenverteilung der genannten Pflanzen an die zusammengedrängt lebenden Arbeiter vom medizinischen Standpunkt aus unbeachtet. Erst daraus, daß 1948 die Schweizer KARRER und SCHMIDT in diesen Gemüsen antibiotisch wirksame Substanzen gegen verschiedene Bakterien, ja selbst gegen Typhus, Cholera und Ruhr fanden, schließt BÖTTCHER, daß damit eine Erklärung für diese Massenverteilung und den Umstand gefunden worden war, daß eine solche Menschenmenge, wie sie zum Pyramidenbau erforderlich war (man schätzt 100 000), in der zusammengepferchten Wohnweise

weitgehend vor Seuchen und anderen Krankheiten geschützt werden konnte.

Neben Verwendung in der Tierhaltung finden in weit größerem Ausmaß die Antibiotika (vornehmlich aus der Tetracyclinreihe) Anwendung in der Konservierung von Nahrungsmitteln. So hat man Rindern nach der Schlachtung Chlortetracyclin injiziert oder sie in Chlortetracyclinlösung getaucht und ein besser haltbares Fleisch erzielt (WEISER u.Mitarb., GOLDBERG u.Mitarb., HENNEBERG, HENNEBERG u.HABELT, WELCH u.v.a.). Dem Verderben von Fisch und Fischfilets (BRANDES) wie von Krabben (BERNARDE u. LITTLE-FORD) wurde mit Antibiotika vornehmlich Chlortetracyclin mit Erfolg begegnet (WHITE-STEVENS). Weiter hat man geschlachtete, ausgenommene Hühner in Chlortetracyclin-Tauchlösung getaucht und eine erheblich verzögerte Zersetzung erreicht (ZIEGLER und STADELMANN).

Über diese Erscheinungen hinaus hat die Forschung in der gerichtlichen Medizin gezeigt, daß bei antibiotisch behandelten Menschen und Tieren postmortal eine starke Verzögerung der Fäulnisprozesse eintritt (H.J.WAGNER). Wie sich bei exhumierten Leichen ergeben hat, machen sich auch hier die konservierenden Eigenschaften (Wirkungsmechanismus) der Antibiotika auf das Gewebe bemerkbar. Allerdings gibt es für langdauernde Hemmung der Fäulnis keine bakteriologischen Erklärungen (WAGNER u. GILLISSEN). Diese Fäulnishemmung bringt einerseits den Vorteil, längere Zeit nach Eintritt des Todes noch Befunde zu erheben, die im Falle der ungehemmten Fäulnis unmöglich wären, andererseits den Nachteil, bei Auffinden nicht identifizierbarer Leichen (z.B. nach Gewaltverbrechen) die Todes- bzw. Liegezeit unkorrekt oder falsch zu bestimmen, was entsprechende Fehler in bezug auf die gerichtlichen Nachforschungen nach sich ziehen muß.

Aus letztgenannter Tatsache und dem Umstand des weiten Anwendungsbereiches der Antibiotika erhebt sich die Frage, welche Möglichkeiten, Antibiotika und evtl. ihre Abbauprodukte postmortal chemisch zu erfassen, bestehen und über welche Zeiträume hinweg dies gelingt.

Soweit man die mannigfaltige Literatur über Antibiotika zu übersehen vermag, sind bisher noch keine systematischen Versuche unternommen worden, besonders im Hinblick auf die gerichtsärztliche Praxis antibiotische Substanzen und deren Abkömmlinge über einen bestimmten Zeitraum postmortal nachzuweisen. Vergleiche mit den Arbeiten über Nahrungsmittel - speziell Fleischkonservierung - sind deshalb unangebracht, weil in diesen Fällen die verabfolgten Antibiotikamengen weit über den in der Humanmedizin üblichen Dosen liegen.

Es war darum Aufgabe der vorliegenden Arbeit, anhand von in-vitro- und in-vivo-Versuchen bei in der Humanmedizin üblicher Dosierung Antibiotika über einen zu bestimmenden Zeitraum nachzuweisen.

Bei der Vielzahl der Antibiotika griffen wir für unsere Versuche die der Tetracyclinreihe heraus und in besonderem Maße das Chlortetracyclin. Wie wir in Vorversuchen herausgefunden hatten, war Chlortetracyclin bezüglich der hier aufgeworfenen Fragen mit am längsten wirksam. Darüber hinaus erreicht es nach RANDALL u. Mitarb. die höchsten Blutspiegelwerte und verbleibt am längsten von allen anderen gebräuchlichen Antibiotika im Blut.

Bei der Durchsicht der Literatur wurde vor allem Wert darauf gelegt, chemische Nachweismethoden zu finden, die einmal einfach genug für die Durchführung in der gerichtsärztlichen Praxis sind und zum anderen ausreichende Empfindlichkeit aufweisen, die sehr geringen Serumkonzentrationen, die man erwarten kann, vor allem postmortem zu erfassen.

ÜBERSICHT DER NACHWEISMETHODEN IN DER LITERATUR

Den Nachweis einer antibiotisch wirksamen Substanz kann man auf zwei Arten führen:

1. biologisch (u. a. durch Bestimmung der Keimzahl),
2. chemisch-physikalisch.

Für uns kam nur der chemisch-physikalische Weg in Frage, weil nicht die Aktivität zu prüfen war, sondern im Hinblick auf die gerichtsärztliche Fragestellung die Substanz des Chlortetracyclins und seine evtl. Abbauprodukte festgestellt und nachgewiesen werden sollten.

Eine Vielzahl von Nachweisreaktionen ist beschrieben worden. SEED und WILSON führten Chlortetracyclinteste sowohl chemisch-physikalisch als auch bakteriologisch über den Zeitraum von 24 Stunden aus und konnten dabei feststellen, daß der Unterschied in der Empfindlichkeit der beiden Testmethoden nahezu gleich war. Das Prinzip beruht auf der Adsorption von Chlortetracyclin an Silica-Gel. Sie stellten bei ihren Versuchen fest, daß Chlortetracyclin im sauren Bereich gelb, im alkalischen blau fluoresziert. Sie arbeiteten mit der Gelb-Fluoreszenz, weil nach ihrer Prüfung gelb-fluoreszierende Komponente weitaus seltener in Körperflüssigkeiten - vor allem unter dem Einfluß der Medikation - vorkommen als blau-fluoreszierende. So wurde herausgefunden,

daß ein sich auf Gelb-Fluoreszenz gründender Test weniger Anlaß zu Interferenzschwierigkeiten geben würde als ein auf Blau-Fluoreszenz beruhender Test. SEED und WILSON machten ihre Versuche an Patienten, die an Gelbsucht, Leberzirrhose, Leukaemie, Arteriosklerose, rheumatischem Fieber, Pneumonie und anderem mehr litten und unter einer mannigfachen Medikation standen. Unter anderem: Sulfonamide, Penizilline, Dicumarol, Salicylate, Vitamine und insbesondere Streptomycin und Chloramphenicol. In keinem Fall wurde Interferenz festgestellt.

Der Nachteil dieser Methode - neben der Schwierigkeit der absoluten Genauigkeit der Präparation, besteht darin, daß zu jedem Test jeweils frischgesetzte Vergleichsproben in gleicher Weise hergestellt werden müssen.

In ähnlicher Weise wie SEED und WILSON verfährt SALTZMAN bei seinem Versuch, Chlortetracyclin nachzuweisen. SALTZMAN benutzt im Gegensatz zu SEED und WILSON die Blau-Fluoreszenzen.

GROVE und RANDALL beschrieben Nachweismethoden mit Hilfe der Gelb-Fluoreszenz unter UV-Licht, chemischer Farbreaktion und der Fähigkeit der Antibiotika, die Ebene des polarisierten Lichtes spezifisch zu drehen. VAN ARKEL und WEESHOF u.v.a. (SANTI, SEREMBE, SONCIN, KELSEY, GOLDMANN, SOKOLSKI u.Mitarb.) wiesen Chlortetracyclin teils mit Hilfe der Gelb- bzw. Blau-Fluoreszenz, teils mit chemischen Farbreaktionen nach. SANTI konnte nach Adsorption an Fullererde eine Menge bis zu 1 mcg nachweisen. Bei ihren Versuchen beschreiben SEREMBE und SONCIN ebenfalls die pH-Abhängigkeit der beiden Fluoreszenzformen.

Darüber hinaus wird von SANTI und SEREMBE berichtet, daß die blau-fluoreszierende Chlortetracyclinform im Gegensatz zur gelb-fluoreszierenden inaktiv ist und somit mittels eines biologischen Testes nicht mehr nachweisbar ist.

Eine colorimetrische Nachweismethode für Chlortetracyclin beschreibt A.E. OXFORD. Die Methoden der genannten Autoren können im Gegensatz zu denen von SEED und WILSON in der Praxis im großen und ganzen zwar leicht durchgeführt werden, reichen aber deshalb für die gerichtsärztliche Praxis nicht aus, weil ihre Empfindlichkeit ungenügend ist. Die Arbeitskonzentrationen sind zu hoch (teilweise mehrere 100 mg) und die unterste Nachweisbarkeitsgrenze liegt bei 5 mcg (SANTI: 1 mcg!). Eine papierchromatographische Nachweismethode für die Lebensmittelchemie wird von HEPOLD und DICKHAUT beschrieben.

Auch mit Hilfe der Papierchromatographie erzielten BERTI und CIMA in der Trennung und Darstellung der Tetracycline beste Erfolge. Ihre Auftragsmenge war 0,5 mcg. Tetracycline. Sie arbeiteten mit der "aufsteigenden" Methode. Als Entwicklungslösung nahmen sie 3% wässrige Arseniklösung (NaAsO_2). Das nach 150 Min. entwickelte Chromatogramm wurde getrocknet und die Lokalisation der Antibiotika mit Hilfe der Gelb-Fluoreszenz unter UV-Licht festgestellt.

Soweit die Literatur eingesehen werden konnte, erschien uns die papierchromatographische Methode als die günstigste, weil sie

1. genügende Empfindlichkeit zeigt und
2. einfach in der Durchführung ist.

EIGENE VERSUCHE

Versuchsordnung

Die in-vitro-Versuche wurden mit wässrigen Lösungen nach der in der Humanmedizin üblichen Dosierung vorgenommen. Wir arbeiteten aus oben genannten Gründen mit der Methode nach BERTI und CIMA, modifiziert nach der hier gegebenen Zweckmäßigkeit.

Chlortetracyclin, Tetracyclin und Oxytetracyclin kamen als wässrige Lösungen zur Anwendung. Auf 28 cm lange Streifen von Schleicher und Schüll-Papieren (2043b und 2045b) (BERTI und CIMA arbeiteten mit Whatman-Papieren Nr.3 MM) wurden die Tetracycline mit Hilfe einer Mikropipette auf einer Linie 4 cm von einem der äußersten Enden in Flecken bis zu einem Durchmesser von ca. 1 cm aufgetragen. Das Chromatogramm wurde gemäß der "aufsteigenden" Methode mit einer 5% Arsenik-Lösung (NaAsO_2) entwickelt. Die Wanderung des Lösungsmittels wurde ca. 3 cm vom oberen Streifenrand gestopt. Bei einer Temperatur zwischen 19° und 22°C betrug die Laufzeit 180-240 Min. Die Papiere wurden dann luftgetrocknet und die Lokalisation der Antibiotika fluorometrisch unter UV-Licht bestimmt.

Da in den ersten Versuchen die Tetracycline mit langen Schweifen und Chlortetracyclin teilweise in Blau-Fluoreszenz erschienen, wurde die Entwicklerlösung mit HCl angesäuert (20 Tropfen auf 300 ccm, pH 6,5, Indikator: p-Nitrophenol). Bei dieser Modifizierung zeigten sich die Tetracycline in scharf begrenzter gelber "Querstreifen-Fluoreszenz".

Die unterste Nachweisbarkeitsgrenze bei dieser Methode lag bei 0,5-0,4 mcg.

TABELLE I Empfindlichkeitsversuch

Substanz	Konz.	Auftra- gungsmg. in mcg	Papier	Gelb- Fluo- resz.	Papier	Gelb- Fluores- zenz
Tetracycline in NaCl und H ₂ O	0,1%	3,0	2045 b	++	2043 b	++
		2,0		++		++
		1,0		++		++
		0,5		+		+
		0,4		(+)		(+)
		0,3		?		?
		0,2		-		-
		0,1		-		-

Zeichenerklärung:

++ = stark positiv

+ = positiv

(+) = schwach, aber sicher positiv

? = fraglich, kein sicherer Nachweis

- = negativ

Wir führten unsere Chromatogramme auf Schleicher & Schüll-Papier Nr. 2043 b aus, da es einen höheren und schnelleren Lauf gewährleistete.

Die Zeichen gelten auch für alle weiteren Tabellen!

Bei diesem Versuch standen uns wässrige Lösungen zur Verfügung, im späteren Tierversuch mußte mit Blut und anderen Körperflüssigkeiten gearbeitet werden. Um die störenden Farbstoff- und anderen Komponenten des Blutes und die geringen Mengen (max 4 mcg/ml; HERREL, HEILMANN, DOWLING u. Mitarb.) Tetracyclin in der Blutflüssigkeit darstellen zu können, mußte das Blut eine entsprechende Aufarbeitung erfahren. Das brachte einerseits den Nachteil mit sich, daß es aufgrund der Aufarbeitungsreagenzien zu Interferenzerscheinungen kommen konnte und andererseits das Blut verdünnt, die Konzentration damit herabgesetzt wurde und dadurch mit größeren Auftragungsmengen gearbeitet werden mußte. Experimentelle Untersuchungen über Aufarbeitungsmöglichkeit und Interferenzerscheinungen der einzelnen Reagenzien mit Antibiotika ließen uns folgenden weiteren Versuch machen:

Es wurde eine Tetracyclin-Konzentration in Nativ-Blut von 4 mcg/ml und 8 mcg/ml hergestellt. Zu 0,5 ccm dieses Blutes wurden zum Zwecke der Aufarbeitung 0,5 ccm einer 0,5% Saponinlösung (Haemolyse) und 0,5 ccm einer 15% Trichloressigsäurelösung (Eiweißfällung) hinzugefügt und 8 Min. bei 4000 U/min zentrifugiert. Vom "Blut" der Konzentration 4 mcg/ml wurden 0,5 mcg und 0,4 mcg, vom "Blut" der Konzentration 8 mcg/ml 1 mcg, 0,5 mcg und 0,4 mcg aufgetragen und nach der beschriebenen Methode entwickelt. Neben Blut wurde der Versuch auch mit NaCl und H₂O durchgeführt. Entsprechende Kontrollen liefen diesen Versuchen parallel.

TABELLE II Versuch mit Nativblut (Vergleich mit NaCl und H₂O)

Konz.	Auftr. - ngsmge in mcg	Nachweisbarkeit mittels (Gelb-)Fluoreszenz unt. UV-Licht								
		Substanz im Medium:								
		AUR Blut	AUR NaCl	AUR H ₂ O	ACHR Blut	ACHR NaCl	ACHR H ₂ O	TERR Blut	TERR NaCl	TERR H ₂ O
4 mcg/ml	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,4	(+)	blau	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	+
8 mcg/ml	1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	0,4	(+)	blau	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

Kontrollen:

Blut + Aufarbeitung:

(Saponin + Trichloressigsäure)

NaCl + Aufarbeitung:

H₂O + Aufarbeitung:

Saponin:

Trichloressigsäure:

Saponin + Trichloressigsäure:

Streifen ohne Auftragung:

(Leerstreifen)

Keine der Kontrollen

zeigte Gelb-Fluoreszenz!

Die Aufarbeitung kombiniert mit der mit HCl-angesäuerten NaAsO₂-Lösung zeigt den Effekt, die Tetracycline alle in einer bestimmten Höhe (Grenzen der Rf-Werte: 0,61-0,67) S-Bandförmig zu konzentrieren. Da hier keine Trennung gefordert wird, sondern die Nachweisbarkeit der Tetracycline im Hinblick auf die gerichtsärztliche Fragestellung, darf dieser Umstand als günstig betrachtet werden.

Die Tabelle soll anschaulich einmal die Versuchsanordnung, zum anderen das Ergebnis zeigen, daß

- 1.) zwischen Blut, NaCl und H₂O kein experimenteller Unterschied besteht - abgesehen davon, daß Chlortetracyclin in NaCl in seine blau-fluoreszierende Form übergeht (auch SANTI stellt das fest) - und
- 2.) mit Hilfe der gefundenen "Aufarbeitung" die weiteren Versuche "in-vitro" und "in-vivo" nach der beschriebenen Methode angestellt werden durften, da die Aufarbeitungsflüssigkeiten die Tetracycline (Chlortetracyclin) weder zerstören noch verändern und keine Interferenzerscheinungen zeigen.

In-vitro-Versuche

Es wurden wässrige Lösungen der drei Tetracycline in der Konzentration 4 mcg/ccm hergestellt und in vier verschiedenen Arten aufbewahrt:

1. Ko = offen im Kühlschrank (durchschnittliche Temperatur 8,4°C)
2. Kg = geschlossen im Kühlschrank
3. Ro = offen im Raum (durchschnittliche Temperatur 20,2°C)
4. Rg = geschlossen im Raum.

Diese Anordnung wurde deshalb so gewählt, um den Verhältnissen in der Praxis in bezug auf Temperatur, Luftfeuchtigkeit und Sauerstoffzufuhr am ehesten gerecht zu werden.

Um den Abbau der Antibiotika genau beobachten zu können, wurden täglich Proben obiger Lösungen auf ihren Gehalt an Tetracycline mit der oben beschriebenen Methode und der angegebenen Aufarbeitung untersucht.

Eine wässrige Lösung von Chlortetracyclin: 40 ccm Konz.: 4 mcg/ml																		
Aufb.= wahr. art	Behdl.vor d.Auftrag. von ca.0,4 - 0,5 mcg	Aufbewahrung und Nachweis mittels Gelb-Fluoreszenz unter UV-Licht in Tagen																
		1	2	3	4	5	7	8	9	10	11	12	14	15	16	17	18	
"Kg"	0,5 ml AUR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	-	
	+ 0,5 ml																	
"Ko"	Saponin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	-
	+ 0,5 ml																	
"Rg"	Trichl. essigs.	+	+	+	+	+	(+)	-	-									
"Ro"		+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	-	-						
Kontrollen zeigten keine Fluoreszenzerscheinungen																		

TABELLE IV In-vitro-Versuch mit Tetracyclin

Eine wässrige Lösung von Tetracyclin: 40 ccm Konz.: 4 mcg/ml											
Aufb.= wahr. art	Behdl. vor d. Auftr. von ca. 0,4 - 0,5 mcg	Aufbewahrung und Nachweis mittels Gelb-Fluoreszenz unter UV-Licht in Tagen									
		1	2	3	4	5	7	8	9	10	11
"Kg"	0,5 ml ACHR	+	+	+	+	+	(+)	(+)	-	-	
	+ 0,5 ml										
"Ko"	Saponin	+	+	+	+	+	(+)	-	-	-	
	+ 0,5 ml										
"Rg"	Trichl.	+	+	+	+	+	(+)	-	-	-	
	essigs.										
"Ro"		+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	
Kontrollen zeigten keine Fluoreszenzerscheinungen											

TABELLE V In-Vitro-Versuch mit Oxytetracyclin

Eine wässrige Lösung von Oxytetracyclin: 40 ccm Konz.: 4 mcg/ml											
Aufb.= wahr. art	Behandl. vor d. Auftrag. von ca. 0,4 - 0,5 mcg	Aufbewahrung und Nachweis mittels Gelb- Fluoreszenz unter UV-Licht in Tagen									
		1	2	3	4	5	7	8	9	10	11
"Kg"	0,5 ml TERR + 0,5 ml Saponin + 0,5 ml Trichlor- essigs.	+	+	+	+	+	(+)	(+)	-	-	
"Ko"		+	+	+	+	+	(+)	(+)	-	-	
"Rg "		+	+	+	+	(+)	(+)	-	-	-	
"Ro"		+	(+)	(+)	(+)	(+)	-	-			
Kontrollen zeigten keine Fluoreszenzerscheinungen											

Ergebnis:

Aus den Tabellen ist einmal zu erlesen, daß Chlortetracyclin die längste Haltbarkeit zeigt, gefolgt von Oxytetracyclin und Tetracyclin. Zum anderen zeigt die anaerobe Chlortetracyclin-Raumaufbewahrung die geringste Haltbarkeit im Gegensatz zur aeroben Raumaufbewahrung und zu beiden Kühlschranksaufbewahrungen. Die beste Haltbarkeit fand sich allgemein in den Lösungen im Kühlschrank.

Chlortetracyclin ist bei den gegebenen geringen Konzentrationen bei Kühlschrankaufbewahrung mit Sicherheit 16 Tage lang nachweisbar, bei Raumaufbewahrung 5 Tage ("Rg") bzw. 10 Tage ("Ro") lang. Oxytetracyclin und Tetracyclin sind in jeder Aufbewahrung längstens 5-7 Tage mit Sicherheit nachweisbar. Chemische Abbauprodukte dieser Antibiotika konnten in keinem Fall erfaßt werden.

In-vivo-Versuche

Da Chlortetracyclin sich als am längsten nachweisbar erwiesen hat, führten wir unsere Tierversuche nur mit diesem Antibiotikum durch. Es wurden zunächst hintereinander drei Versuche mit je einem Kaninchen von 3,5-4 kg Gewicht durchgeführt.

Die Tiere wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen wie folgt behandelt:

1.Tag 4 Injektionen,

2.Tag 3 Injektionen.

Erstes Kaninchen: 3 mg/kg i.m.

Zweites Kaninchen: 2 mg/kg i.m.

Drittes Kaninchen: 2 mg/kg i.m.

Zwei Stunden nach der letzten Injektion jeweils wurden die Tiere getötet. Mit sterilen Spritzen wurde Blut, Galle und Urin entnommen und in sterile Venülen-Röhrchen zur Aufbewahrung gegeben.

Die Aufbewahrungsanordnung wurde wie bei den in-vitro-Versuchen vorgenommen. Die Galle wurde nur im Kühlschrank geschlossen aufbewahrt, da verständlicherweise nur wenig zu gewinnen war. Urin wurde "Kg" und "Ro" aufbewahrt.

Daß die drei Körperflüssigkeiten Blut, Galle und Urin zum Nachweis herangezogen wurden, ist wie folgt begründet:

Chlortetracyclin erreicht nach Injektion zunächst einen Serumspiegel von maximal 3-4 mcg/ml (nach ca. 2 Stunden (HERREL u. HEILMAN) Tötungszeit!) und wandert dann sehr schnell in die Gewebe ab. Vor allem reichert die Leber Chlortetracyclin an und scheidet es mit der Galle in die Gallenblase ab, wo mit hohen Konzentrationen gerechnet werden kann (HERREL und HEILMAN). Die Niere filtert das freie Chlortetracyclin (65-70% an Plasma-Eiweiß gebunden (VONDERBANK)) aus. In den Tubuli findet keine Rückresorption mehr statt. Die Ausscheidung beginnt sofort nach der Injektion und dauert ca. 24 Stunden an, um nach 6-8 Stunden ihren Höhepunkt erreicht zu haben (PAINE u.Mitarb., COLLINS u.Mitarb., FINLAND u.Mitarb.). Die Relation zwischen Serumspiegel und Urinspiegel während der Ausscheidung liegt etwa so, daß die im Urin gefundenen Werte etwa 100 mal höher liegen als die zur gleichen Zeit im Serum (DOWLING u.Mitarb.). (Diese hohe Konzentration ist auch darauf zurückzuführen, daß die Niere durch Wasserresorption eine Konzentrationsleistung vollbringt! (LEPPER u.Mitarb.).)

HERREL und HEILMAN geben durchschnittliche Chlortetracyclinspiegelwerte an:

Durchschnittlicher Chlortetracyclinspiegel:

im Serum:	3,5 mcg/ml
in der Galle:	42,6 mcg/ml
im Urin:	256 mcg/ml

Es kann also mit Recht angenommen werden, daß die Wahrscheinlichkeit eines am längsten möglichen Nachweises gerade im Urin und in der Galle sehr groß ist. Es wurden täglich Proben der asservierten Körperflüssigkeiten auf ihren Gehalt an Chlortetracyclin mit der beschriebenen Methode nachgewiesen.

Entsprechende Kontrollen und vor der Behandlung entnommener Urin von Kaninchen I. liefen mit.

TABELLE VI. Kaninchen I.

TABELLE VII. Kaninchen II.

TABELLE VI In-vivo-Versuch mit Kaninchen I

Substr.	Aufbewahrung.	Aufbewahrung und Nachweis mittels Gelb-Fluoreszenz unter UV-Licht in Tagen									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Blut	"Kg"	(+)	-	-							
	"Ko"	(+)	-	-							
	"Rg"	(-)	-	-							
	"Ro"	(+)	-	-							
Galle	"Kg"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	ø
Urin	"Kg"	(b)	(b)	(b)	(b)	(b)	(b)	(b)	(b)	-	-
		+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	-	-
	"Ro"	(b)	(b)	(b)	(b)	(b)	(b)	(b)	(b)	-	-
		+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	-	-

Kontrollen (mit Urin) zeigten keine Gelb-Fluoreszenz.

(b) = , neben der gelben auch blaue Randfluoreszenz.

TABELLE VII In-vivo-Versuch mit Kaninchen II

Substr.	Aufbe- wahr. art	Aufbewahrung und Nachweis mittels Gelb- Fluoreszenz unter UV-Licht in Tagen									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Blut	"Kg"	(+)	-	-							
	"Ko"	(+)	-	-							
	"Rg"	(+)	-	-							
	"Ro"	(+)	-	-							
Galle	"Kg"	b	b	b	b	b	b	b	b		
		+	+	+	+	+	+	+	+		
Urin	"Kg"	b	b	b	b	b	b	b	b		
		+	+	+	+	+	+	+	+		
	"Ro"	b	b	b	b	b	b	b	b		
		+	+	+	+	+	+	+	+		
Kontrollen (ohne Urin) zeigten keine Fluoreszenzerscheinungen. b + = starke Blau-Fluoreszenz ohne Gelb-Fluoreszenz.											

Ergebnisse:

Kaninchen I:

Die Proben aus dem Blutröhrchen zeigen schon am zweiten Tag der Aufbewahrung nur ein schwach-positives Ergebnis. Der zweite und dritte Nachweis zeigen ein absolut negatives Ergebnis. Aus dem Blut ist kein Nachweis mehr zu erbringen.

Die Galle zeigt während 10 Nachweisen (für weitere Versuche war keine Galle mehr vorhanden) intensive Gelb-Fluoreszenz mit blauer Randfluoreszenz. Der Urin erscheint in der gleichen Form, doch ist hier die blaue Fluoreszenz stark dominierend. Am 7.Tag verschwand die Nachweismöglichkeit mehr oder weniger plötzlich. Die Kontrollen waren alle negativ.

Die pH-Werte:

Galle: 6,5, Urin: 7.

Kaninchen II:

Im Blut fanden wir die gleiche Situation wie bei Tier I. Galle und Urin zeigten beide eine intensive Blau-Fluoreszenz, die aber einerseits nur wenig charakteristisch und andererseits wegen der Interferenzmöglichkeit ungenau war. Bei anschließenden Futtermitteluntersuchungen stellte sich heraus, daß die starke Blau-Fluoreszenz durch das Futtermittel Altrumen verursacht war. Der Versuch eines Nachweises wurde 8 Tage durchgeführt, ohne das Erscheinungsbild der Gelb-Fluoreszenz zu erhalten.

Die pH-Werte waren:

Galle 6,5, Urin 7.

Kaninchen III:

Kaninchen III wurde zwei Tage vor dem Versuch von uns mit Grünfutter ernährt, um die Komplikation des Futtermittels Altrumen auszuschalten. Dadurch entstand aber bei dem Tier eine starke Alkalose (Galle pH 8, Urin pH 9), die exakte Nachweise unmöglich machte, da Chlortetracyclin sich nur im schwachsauren bis höchstens neutralen Milieu (pH 6,5) hält (SANTI, SANTI u. SEREMBE, SONCIN, SEREMBE, OTTE-KÖHLER, WALTER u. HEILMEYER) bzw. in seine blau-fluoreszierende Form übergeht, die auch hier aus Gründen der Interferenzmöglichkeit zum Nachweis nicht herangezogen werden konnte.

Erfahrungen und Beobachtungen

Aus den bisher geführten Versuchen konnten wir die Erfahrung und Beobachtung machen, daß sich die Theorie unserer Nachweismethode bei in-vitro-Untersuchungen bestätigt, jedoch bei in-vivo-Versuchen aus Gründen der aufgezeigten Fehlerquellen nicht eindeutig durchführen läßt. Hier stehen sich die klar zu schaffenden Verhältnisse des in-vitro-Versuches und die unberechenbaren Fehlerquellen und Schwierigkeiten des Tierversuches gegenüber. Die Ergebnisse sind als zweifelhaft zu bezeichnen.

Um die entdeckten Fehlerquellen durch Futtermittel auszuschalten, wurde darum ein Abschlußversuch mit weiteren drei Kaninchen gemacht.

Die Tiefe wurden diesmal über drei Wochen von uns mit Futterrüben und altem trockenen Brot gefüttert. Während dieser Zeit wurde regelmäßig der pH-Wert des Urins gemessen, um erstens eine für unsere Versuche günstige Fütterung zu erreichen und zu kontrollieren, zweitens eine Konstanz des

pH-Wertes zu bekommen und drittens einen günstigen Zeitpunkt für den neuen Versuch herauszufinden.

Gleichfalls wurde der Urin regelmäßig mit Hilfe der beschriebenen Methode auf evtl. Fluoreszenzerscheinungen, die unseren Versuch evtl. hätten stören können, untersucht.

Das Ergebnis dieser Vorbereitung war zufriedenstellend in der Hinsicht, daß sich der pH-Wert konstant um pH 7 hielt und störende Fluoreszenzerscheinungen nicht auftraten.

Die Tiere wurden in der schon beschriebenen Weise zwei Tage mit Chlortetracyclin behandelt und zwei Stunden nach der letzten Injektion getötet. Zur Asservierung kamen wiederum Blut, Galle und Urin (Blut: "Ko", "Kg", "Ro", "Rg". Galle: "Ko", "Ro". Urin: "Ko", "Ro" jeweils von jedem Tier). Die Temperatur im Raum bewegte sich in den Grenzen von 19-22°C, im Kühlschrank zwischen 8-9°C. Der Versuch des Nachweises wurde täglich geführt.

Als Kontrollen liefen mit:

1. Urin eines vierten unbehandelten Kaninchens,
2. Eine wässrige Lösung von Chlortetracyclin (0,5 mcg, 1,0 mcg)
3. Ein Streifen mit den Aufarbeitungsreagenzien
4. Ein Leerstreifen zur Kontrolle des Lösungsmittels (angesäuerte 5% NaAsO₂)

Bei einer Temperatur zwischen 19°C und 22°C betrug die Laufzeit 200 - 240 Min.

TABELLE VIII.

Ergebnis:

Die Untersuchungen in Galle und Urin zeigen deutlich, daß der Nachweis im Urin bemerkenswert länger zu führen ist als in der Galle. Das ist sicherlich ein Beweis dafür, daß die Chlortetracyclinkonzentration im Urin erheblich höher ist als in der Galle. In zwei Fällen (K III, K I) der Kühlschrankaufbewahrung konnte immerhin 15 Tage lang ein sicherer Nachweis erbracht werden.

Die Ergebnisse der Gallenuntersuchungen sind im Gegensatz zu denen im Urin verhältnismäßig einheitlich in bezug auf die einzelnen Tiere und die Aufbewahrungsarten. Im Urin dagegen ergeben sich erhebliche Unterschiede, sowohl in der Aufbewahrungsart - K III "Ko" bzw. K I "Ko" halten sich 8 Tage länger als die entsprechenden "Ro"-Aufbewahrungen - als auch zwischen Tier K II auf der einen und K I und K III auf der anderen Seite. K I und K III zeigen einheitliche Ergebnisse, während bei K II nur ein Nachweismaximum von 8 Tagen erreicht werden konnte.

Abbauprodukte konnten auch bei diesem Tierversuch in keinem Falle erfaßt werden.

Die einzelnen Kontrollen zeigten keine Fluoreszenzerscheinungen bzw. die Chlortetracyclinkontrolle, die aus den in-vitro-Versuchen bekannte Gelb-Fluoreszenz.

DISKUSSION

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen zeigen einmal, daß Chlortetracyclin mit Bezug auf Tetracyclin und Oxytetracyclin die längste Nachweisbarkeit im in-vitro-Versuch besitzt.

Während sich bei Tetracyclin und Oxytetracyclin keine Unterschiede in der Aufbewahrungsart einerseits und der Nachweisdauer andererseits ergeben, findet sich bei Chlortetracyclin eine deutliche Differenz der Nachweisbarkeit zwischen "Kg", "Ko" und "Rg", "Ro" einerseits und "Rg" und "Ro" andererseits. Wegen der langen Nachweisbarkeit von Chlortetracyclin kam im Tierversuch nur dieses Antibiotikum zur Untersuchung. Im günstigsten Falle konnte Chlortetracyclin 16 Tage nach Tötung des Tieres mittels der Methode nach BERTI und CIMA modifiziert nach der hier gegebenen Zweckmäßigkeit nachgewiesen werden. Der Unterschied zwischen "Ko" und "Ro" war der gleiche wie der im in-vitro-Versuch. Abbauprodukte konnten bei keinem Versuch erfaßt werden.

Eine Einheitlichkeit der Ergebnisse im Tierversuch war nicht gegeben. Beim ersten Kaninchen war die Chlortetracyclin-Nachweisbarkeit in der Galle deutlich länger als im Urin. Der zweite und dritte Kaninchenversuch konnte wegen Störungen von seiten der Fütterung (Fehlerquelle: Futtermittel und ungeeignete Futterzusammenstellung) einmal nur unsicher und zum anderen gar nicht gewertet werden. Der vierte Kaninchenversuch mit drei Tieren zeigte im Gegensatz zu Versuch 1) eine längere Chlortetracyclin-Nachweisbarkeit im Urin. Diese letzte Tatsache deckt sich allerdings mit den Angaben in der Literatur. Doch war bei diesem Versuch keine Einheitlichkeit bei der Nachweisbarkeit in den Körperflüssigkeiten der einzelnen Tiere gegeben, da K II erheblich hinter K I und K III zurücksteht.

Die Unterschiede zwischen in-vitro- und in-vivo-Versuch sind - sofern man für den in-vivo-Versuch von den Fehlerquellen, die sich aus der Art der Tierhaltung ergeben können, einmal absieht - im wesentlichen in den grundverschiedenen Versuchsverhältnissen begründet. Im in-vitro-Versuch kann man klare Verhältnisse schaffen, in vivo muß man mit den vielen Unberechenbarkeiten rechnen, die der animalische Organismus in sich birgt. (Einstellung der Zelle auf die Injektion, Stoffwechsel, Resorptionsverhältnisse, Organschäden usw.)

Die Konsequenzen, die aus diesen Nachweisen gezogen werden, sind:

1.) Die Annahme, mittels Papierchromatographie Abbauprodukte der Antibiotika - in forensischer Hinsicht - zu erfassen, hat sich nicht bewahrheitet. Es ist lediglich im günstigsten Falle möglich, Chlortetracyclin direkt durch seine Fähigkeit, im UV-Licht gelb zu fluoreszieren, 16 Tage post mortem nachzuweisen.

2.) Die sehr kurze Zeit eines möglichen postmortalen Nachweises von Chlortetracyclin im Blut läßt diesen Weg nicht in Betracht kommen. Bei unseren Versuchen auf Zeit erwiesen sich für den Nachweis Urin und Galle am günstigsten, da - wie schon oben gesagt - Chlortetracyclin sehr schnell aus dem Blut in die Gewebe abwandert, vor allem auch in die Leber und dort mit der Galle in die Gallenblase abgeschieden wird.

Durch die Niere wird Chlortetracyclin sofort nach der Injektion in großen Mengen ausgeschieden, und die Ausscheidung dauert ca. 24 Stunden an.

Die Konzentrationsverhältnisse zwischen Blut, Galle und Urin ergeben sich dabei aus der Übersicht von HERREL und HEILMAN.

Die Anzahl unserer Tierversuche ist sicherlich relativ gering. Doch halten wir sie aus zwei Gründen für genügend:

- a) Im Hinblick auf die gerichtsmedizinische Fragestellung war es nicht erforderlich, nach einer statistisch exakten Nachweiszeit zu forschen. Unser Ziel war einmal, einen Überblick über den Zeitraum der Nachweismöglichkeit zu erhalten und zum anderen die evtl. Erfassung von Abbauprodukten der Antibiotika herauszufinden.
- b) Außerdem sollte der Forderung, Tierversuche nur in angemessenen Grenzen bei größtmöglicher Schonung der Tiere durchzuführen, Rechnung getragen werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Antibiotika zeitigen den Erfolg, die postmortale Fäulnis zeitlich erheblich zu verzögern und zu hemmen. Im Falle von gerichtsmedizinischen Erhebungen kann es dadurch zu verhängnisvollen Fehlentscheidungen (bei unbekannter Anamnese) in bezug auf die Liege- bzw. Todeszeit kommen.

Es wurden Versuche darüber angestellt, Antibiotika (hier Chlortetracyclin) und ihre Abbauprodukte postmortal chemisch-physikalisch zu erfassen. Nicht die Aktivität sollte geprüft, sondern die Substanz nachgewiesen werden. Die Versuche wurden nur unter dem Gesichtspunkt, wie sie für die gerichtsärztliche Praxis Gültigkeit haben (Therapie, Dosierung, Nachweisdauer) durchgeführt. Als Methode der Wahl wurde mit der Papierchromatographie gearbeitet, die sich für die Praxis als am günstigsten erwies.

Der Versuch eines Nachweises wurde in vitro und in vivo geführt und die Ergebnisse in einer Diskussion beleuchtet.

LITERATURZUSAMMENSTELLUNG

1. Arkel, C.G. van, Pharmaceut.wbl.Amsterdam 86, 389 (1951)
A.M. Weeshoff: zit. nach H. Vonderbank (Lit.Nr.40)
2. Berti, T. e Metodo rapido per la separazione cromatografica
L. Cima: su carta degli Antibiotici Tetracyclini.
Boll.Ist.sieroterap.milan. 33, 643 (1954)
3. Bernarde, M.A. u. Antibiotic residues in shellfish after cooking.
Littleford: Studies with breaded crab and oyster meat.
J.Amer.Diet.Ass. 33, 1145 (1957)
4. Böttcher, H.M.: "Wunderdrogen", Köln 1959
5. Brandes, H.: Über praktische Erfahrung bei der Verwendung
von Aureomycin zur Frischhaltung von Seefischen.
Arch.Lebensmittelhyg. 9, 132 (1958)
6. Brüggemann, A.J. u. Wirkstoffe in der Tierhaltung.
J. Tiews: Medizin u.Ernährung 7, 161 und 8, 184, Jhrg.3
(1962)
7. Collins, H.S., Urinary excretion of aureomycin.
E.B. Wells, Preliminary report.
T.F. Paine and Proc.Soc.Exper.Biol.Med. N.Y. 69, 174
M. Finland: (1948)
8. Diemair, W. u. Verhalten der Antibiotika in Lebensmitteln:
W.Rödter: Über eine quantitative Erfassung der Antibiotika.
Zschr.Lebensmittel-Unters. 111, 365 (1960)
9. Dowling, H.F., Studies on serum concentrations in humans and
M.H. Lepper, preliminary observations on Treatment of human
L.K. Sweet and infections with Aureomycin.
R.L. Brickhouse: Ann.N.Y.Acad.Sc. 51, 241-245 (1948)
10. Dowling, H.F., Ann.Med.Distr.Columbia 18, 355 (1949)
M.M. Lepper, zit.nach H. Vonderbank (Lit.Nr.40)
E.R. Caldwell,
R.L. Whelton and
L.K. Sweet:

11. Duggar, B.M.: Aureomycin, a Product of the Continuing Search for New Antibiotics.
Ann.N.Y.Acad.Sc. 51, 177 (1948)
12. Finland, M., Present Status of Aureomycin Therapy.
H.S.Collins, Ann.Int.Med. 31, 39 (1949)
T.M.Gocke and
E.B.Wells:
13. Fleisch, A.: Antibiotika und Vitamine als Lebensmittelzusätze.
Ref.Therapiewoche 9, 120 (1959)
14. Goldberg, H.S., Studies on meat: IV. Use of antibiotics in pre-
H.H.Weiser and servation of fresh beef.
F.E.Deatherrage: Food Technol. 7, 165 (1953)
15. Grove, D.C. and Antibiotic Monographs II.
W.A.Randall: Assay methods of anitbiotics.
Med.Encycl.Inc. N.Y. (1959)
16. Harned, B.K. et al.: The pharmacology of Duomycin.
Ann.N.Y.Acad.Sc. 51, 183 (1948)
17. Henneberg, O.H.: Antibiotikakonservierung - Hygiene der Schlach-
tung und der Erzeugung von Fleischwaren.
Wien.Tierärztl.Mschr. 45, 755 (1958)
18. Henneberg, O.H. u. Versuche über die Verlängerung der Haltbarkeit
A.Habelt: von Rindfleisch mit Tetracyclinen.
Wien.Tierärztl.Mschr. 45, 473 (1958)
19. Herodot: Geschichtswerke, Stuttgart 1885
zit.nach J.Thorwald (Lit.Nr.37) 1.c.S.92
20. Herold, G. u. Schnellverfahren zum papierchromatographischen
G.Dickhaut: Nachweis der zugelassenen Konservierungsmittel
in Lebensmitteln.
Mitt.bl.d.Dtsch.Ges.Chem., Fachgruppe Le-
bensmittelchemie 14, 160 (1959)
21. Herrel, W.E. and Aureomycin: Studies on Absorption, Diffusion
F.R.Heilman: and Excretion.
Proc.Staff Meet.Mayo Clin. 24, 157 (1949)

22. Karrer und
Schmidt: zit.nach J.Thorwald (Lit. Nr.37)
1.c. S.92
23. Kelsey, H.S. and
L.Goldman: The Assay of Aureomycin by Instrumental methods.
J.Clin.Invest. 28, 1048 (1949)
24. Kuhn, R.: Aureomycin.
Angewandte Chemie S.173 (1951)
25. Lepper, M.H.,
H.F.Dowling,
R.L.Brickhouse and
E.R.Caldwell: Blood and Cerebrospinal Fluid Concentrations of
Aureomycin after oral and intramuscular Admi-
nistration.
J.Laborat.Clin.Med. St.Louis 34, 366 (1949)
26. Otte/Köhler: Die Praxis der Resistenz- und Spiegelbestimmun-
gen zur antibiotischen Therapie. Jena 1958.
27. Oxford, A.E.: A colorimetric method for the determination of
Aureomycin in body fluids and similar media.
The Nature 172, 398 (1953)
28. Paine, T.F.,
H.S.Collins and
M.Finland: Laboratory-Studies with Aureomycin.
Urinary Excretion.
Ann.N.Y.Acad.Sc. 51, 230 (1948)
29. Randall, R.V.,
R.W.Taylor and
W.E.Wellman: Intravenous Administration of Aureomycin in-
cluding studies on the Concentration in the Serum.
Proc.Staff Meet.Mayo Clin. Rochester, Minnesota
24, 605 (1949)
30. Saltzman, A.: Fluorophotometric Estimation of Aureomycin in
Blood and Urine.
J.Lab.Clin.Med. 35, 123 (1950)
31. Santi, R.: Il comportamento dell'Aureomicina nell'organis-
mo animale indagato con metodo fluorometrico.
Boll.soc.ital.biol.sper. 26, 497 (1950)
32. Santi, R. e
M.Serembe: Il comportamento dell'Aureomicina nell'organis-
mo animale indagato con metodo fluorometrico:
IV. Eliminazione con la bile e con le orine.
Boll.soc.ital.biol.sper. 26, 502 (1950)

33. Seed, J. C. and C. E. Wilson: Fluorometric Determination of Serum-Aureomycin-Levels. Science 110, 707 (1949)
34. Serembe, M.: Raffronto fra Aureomycina e Terramicina sotto l'aspetto della Fluorescenza. Boll.soc.ital.biol.sper. 27, 1331 (1951)
35. Sokolski, W. T., H. Koffler and P. A. Tetrault: A Spray for the Determination Between Aureomycin and Terramycin on Chromatograms. Arch.Biochem.Biophys. 42, 236 (1953)
36. Soncin, E.: Raffronto fra la fluorescenza della Terramicina e quella dell'Aureomicina. Boll.soc.ital.biol.sper. 29, 337 (1953)
37. Thorwald, J.: Macht und Geheimnis der frühen Ärzte. München-Zürich-London 1962
38. Varro: zit. nach J. Thorwald (Lit. Nr.37) 1.c. S.92
39. Virtannen, A. J.: Das Vorkommen und die Bedeutung antibiotischer Substanzen in unseren Kulturpflanzen. Wiss.Veröff.d.Dtsch.Ges.f.Ernährung. Beiträge zum Antibiotika- und Eiweißproblem. 2, 1 (1958) Mainz
40. Vonderbank, H. Aureomycin und Achromycin. Klinische Wirkungen und deren experimentelle Grundlagen. Aulendorf i. Württ. 1956
41. Vuillemin: Zit. nach Pschyrembel: Klinisches Wörterbuch, Berlin 1959, 123.-153.Aufl.
42. Wagner, H. J.: Die Bedeutung der Antibiotika und Sulfonamide für Todes- und Tatzeitbestimmungen in der gerichtlichen Medizin. Habilitationsschrift Mainz 1960
43. Wagner, H. J. u. G. Gillissen: Bakteriologische Untersuchungen an Tierleichen nach vorausgegangener Antibiotika- und Sulfonamidbehandlung. Schweiz.Zschr.Allg.Path. 23, 133 (1960)

44. Welch, H.: Antibiotics in Food preservation.
Science 126, 1159 (1956) Cambridge Mass.
45. Welch, H. and F.D.Hendricks: Comparative Studies on Terramycin and Aureomycin/ Antibacterial Spectrum, Serum Concentrations and Urinary Excretion.
J.Amer.Pharmaceut.Ass. (Sc.Ed.) 39, 185 (1950)
46. Walter, A.M. u. L.Heilmeyer: Antibiotikafibel.
Stuttgart 1954
47. Weiser, H.H., H.S.Goldberg, V.R.Cahill, L.E.Kunkle and F.E.Deatherrage: Observations on fresh meat processed by the infusion of Antibiotics.
Food Technol. 7, 495 (1953)
48. White-Stevens, R.H.: Die Anwendung von Aureomycin zur Verlängerung der Haltbarkeit von Geflügel, Fleisch und Fisch. Internationales Symposion November 1956. Wien.
49. Ziegler, F., W.J.Stadelmann: The Effect of Aureomycin Treatment on the Shelf Life of Fresh Poultry Meat.
Food Technol. 9, 107 (1955)

Am Schlusse meiner Arbeit möchte ich Herrn Priv. Doz. Dr. H. J. Wagner vom Gerichtsmedizinischen Institut der Universität Mainz für die Überlassung des Themas sowie für Anregungen und Unterstützung bei der Arbeit herzlich danken.

Herrn B. Vogelsanger und Fräulein Ch. Dreßler sei ebenso herzlicher Dank gesagt für die Hilfe und ihr freundliches Entgegenkommen bei der technischen Durchführung meiner Versuche.

LEBENS LAUF

Am 31.5.1936 wurde ich Otto Heinrich Wenzel, als Sohn des Rechtsanwalts Dr.jur. Josef Wenzel und seiner Ehefrau Josefine, geb.Schmitz, in Eschweiler bei Aachen geboren.

Nach dem vierten Volksschuljahr besuchte ich von Ostern 1947 an das Städt. naturwissenschaftliche Gymnasium in meiner Heimatstadt Eschweiler und verließ es am 13.März 1957 mit dem Reife-Zeugnis.

Im Sommer-Semester 1957 begann ich mein Studium an der juristischen Fakultät der Leopold-Franzens-Universität in Innsbruck und wechselte im darauffolgenden Winter-Semester an der gleichen Universität zum Studium der Medizin. An der Philipps-Universität in Marburg bestand ich am 31.Oktober 1958 meine naturwissenschaftliche Vorprüfung und an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz am 24.April 1961 meine ärztliche Vorprüfung. Außerdem studierte ich an den Universitäten in Hamburg und Wien.

Ich beabsichtige, mein Studium im Sommer 1964 an der hiesigen Universität mit dem medizinischen Staatsexamen abzuschließen.

